

Julliane da Silva Marques

**O EFEITO DA CARBAMAZEPINA SOBRE O DESENVOLVIMENTO LARVAL DE *Chrysomya megacephala*  
(DIPTERA: CALLIPHORIDAE).**

**Florianópolis**

**2017**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

JULLIANE DA SILVA MARQUES

**O EFEITO DA CARBAMAZEPINA SOBRE O DESENVOLVIMENTO LARVAL DE  
*Chrysomya megacephala* (DIPTERA: CALLIPHORIDAE).**

Florianópolis

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

JULLIANE DA SILVA MARQUES

**O EFEITO DA CARBAMAZEPINA SOBRE O DESENVOLVIMENTO LARVAL DE  
*Chrysomya megacephala* (DIPTERA: CALLIPHORIDAE).**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciatura no curso Ciências Biológicas.

**Orientador:** Prof. Dr. Carlos José de Carvalho Pinto

Florianópolis

2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

MARQUES, Julliane da Silva Marques  
O EFEITO DA CARBAMAZEPINA SOBRE O DESENVOLVIMENTO  
LARVAL DE *Chrysomya megacephala* (DIPTERA: CALLIPHORIDAE).  
/ Julliane da Silva Marques MARQUES ; orientador, Carlos  
José de Carvalho Pinto PINTO, 2017.  
46 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis,  
2017.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Entomotoxicologia. 3.  
Intervalo-pós-morte. 4. Entomologia forense. 5.  
Carbamazepina. I. PINTO, Carlos José de Carvalho Pinto.  
II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em  
Ciências Biológicas. III. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
COORDENADORIA DOS CURSOS DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
Campus Universitário - Trindade - CEP: 88040-900 - Florianópolis - SC  
Telefone: (48) 3721-9235 - e-mail: biologia@contato.ufsc.br  
Site: www.cienciasbiologicas.ufsc.br

**BIO7016 – Trabalho de Conclusão de Curso II**

**ATA DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

Semestre 2017/2

Aluno: Julliane da Silva Marques

Número de matrícula: 13100491

Título do Trabalho: O efeito da Carbamazepina sobre o desenvolvimento larval de *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae).

Orientador: Prof. Dr. Carlos José de Carvalho Pinto

Local de apresentação do trabalho: SIPG01

**Avaliação pela banca examinadora**

Presidente: Prof. Dr. Carlos José de Carvalho Pinto Nota: 10,0

Membro Titular: Prof. Dr. Carlos Brisola Marcondes Nota: 10,0

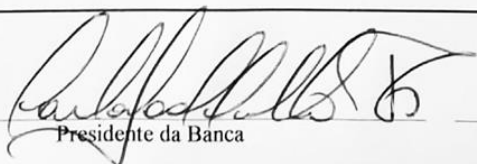
Membro Titular: Dra. Ana Carolina Ries Nota: 10,0

Membro Suplente: Prof. Dr. Luis Carlos Pinho Nota: \_\_\_\_\_

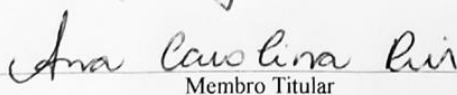
Média Final: 10,0 ( DEZ VIRGULA ZERO )

A Banca examinadora solicitou as seguintes alterações no TCC:

SUGESTÕES ESTÃO NO ARQUIVO DEVEDOR - em  
Seguir as sugestões constantes no material.  
Parabéns. Ana Carolina Ries

  
Presidente da Banca

  
Membro Titular

  
Membro Titular

\_\_\_\_\_  
Membro Suplente

Florianópolis, 08 de dezembro de 2017.

## AGRADECIMENTOS:

Antes de tudo, agradeço a minha família. Meu pai, por ser o melhor amigo que eu poderia ter. A minha mãe, por me dar a vida e salvar ela tantas vezes. Ao meu namorado, por me fazer feliz, por cuidar de mim e estar comigo sempre. A minha irmã, por me escutar e inspirar. Ao meu cunhado, por ser tão gentil em me ajudar nas escolhas difíceis da vida. As minhas amigas da infância/adolescência por estarem presentes na minha vida até hoje, me dando apoio e carinho. Meu amor é imenso e intenso por todos vocês. Por permitirem ser quem eu sou e estarem comigo nos momentos tristes, de doçura e desespero. Obrigada a todos vocês, por me motivar, me inspirar, me amar, me alegrar, e me mostrar que a vida é rara. Todo meu esforço e empenho na vida, é para vocês. Vocês fazem parte do meu coração e da minha alma. Para sempre. Este trabalho também é de vocês.

Agradeço também, aos meus amigos (as) da bio, por serem tão amáveis e partilharem as angústias e alegrias da vida e do curso. A todos os Professores e Professoras que passaram pelo meu caminho e me inspiraram a ser melhor, mais forte e persistente. Ao Professor Carlos Pinto, por me ajudar e me acolher em seu laboratório e ser sempre amigo, divertido, paciente e por me acalmar nos momentos de quase desistência. Obrigada por me permitir realizar este trabalho e por me auxiliar sempre. Ofereço minha gratidão aos meus colegas de laboratório, que me ensinaram tanto e foram muito parceiros durante toda a trajetória.

Nunca chegamos a lugar nenhum, sozinhas. Fui muito afortunada pelos caminhos que escolhi trilhar e ando ao lado de gente que vale a pena. Minha gratidão fica eternizada por aqui e no meu coração. Obrigada!

*“I was just guessing at numbers and figures.  
Pulling the puzzles apart.  
Questions of science, science and progress  
Do not speak as loud as my heart....”*

*The Scientist  
(Coldplay)*

## RESUMO

A entomologia forense utiliza os insetos como uma ferramenta para o auxílio na elucidação de crimes em investigações e em processos judiciais, especialmente na estimativa do intervalo pós-morte (IPM). Substâncias químicas como drogas lícitas ou ilícitas e fármacos utilizados constantemente em vida permanecem presentes no cadáver, podendo influenciar no tempo de desenvolvimento dos insetos e, consequentemente, na estimativa do IPM. O principal objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do fármaco carbamazepina no desenvolvimento de *Chrysomya megacephala*. Para isso, 50 larvas foram mantidas em 75g de carne moída misturada com diferentes concentrações do fármaco: 400mg/kg (correspondente à dose utilizada em humanos); 4000mg/Kg e 40000mg/kg. O controle negativo foi realizado também em triplicata somente com a carne, sem adição do fármaco. A análise foi realizada de 12 em 12 horas quando eram retiradas, aleatoriamente, duas larvas de cada um dos grupos. As larvas foram sacrificadas em água quente, para que morressem distendidas, facilitando a medição com o paquímetro digital. O processo foi repetido até que as larvas abandonassem a dieta para empupar. Foi realizado um controle sem manipulação larval onde 50 larvas foram mantidas em 75 g de carne moída, mas sem a retirada de larvas a cada 12 horas. Esse controle também foi realizado em triplicata e o número de adultos foi quantificado e foi verificada a proporção sexual e tamanho dos adultos. O teste de normalidade de Kolmogorov – Smirnov foi utilizado para analisar a normalidade dos dados e “one-way” ANOVA para verificar a diferença entre os tratamentos. Os resultados obtidos indicaram que a carbamazepina atrasou o tempo de emergência de *C. megacephala*. No entanto, não encontramos diferenças na taxa de mortalidade, proporção sexual, tamanho das larvas e adultos.

**Palavras chave:** Entomotoxicologia, Intervalo Pós Morte, entomologia forense, carbamazepina, anticonvulsivante.

## **ABSTRACT:**

Forensic entomology uses insects as a tool to aid in the elucidation of crimes in investigations and litigation, especially in estimating the postmortem interval (PMI). Chemical substances such as legal or illegal drugs and drugs used constantly during life remain present in the corpse, which may influence the development time of the insects and, consequently, the estimation of PMI. The main objective of this work was to evaluate the effects of the drug carbamazepine on the development of *Chrysomya megacephala*. For this, 50 larvae were kept in 75 g of ground beef mixed with different concentrations of the drug: 400 mg / kg (corresponding to the dose used in humans); 4000mg / kg and 40000mg / kg. The negative control was also performed in triplicate only with the meat, without addition of the drug. The analysis was performed every 12 hours when two larvae were randomly collected from each of the groups. The larvae were sacrificed in hot water so that they died distended, facilitating the measurement with the digital caliper. The process was repeated until the larvae left the diet to quench. A control without larval manipulation was carried out where 50 larvae were kept in 75 g of ground beef, but without larvae withdrawal every 12 hours. This control was also performed in triplicate and the number of adults was quantified and the sexual ratio and size of the adults were verified. The Kolmogorov - Smirnov normality test was used to analyze the normality of the data and one - way ANOVA to verify the difference between the treatments. The results indicated that carbamazepine delayed the time of emergence of *C. megacephala*. However, we found no differences in mortality rate, sex ratio, size of larvae and adults.

**Keywords:** Entomotoxicology, Postmortem Interval, forensic entomology, carbamazepine, anticonvulsant.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de vida genérico das moscas. ....	14
Figura 2 - <i>Chrysomya megacephala</i> .....	17
Figura 3 - Esquema dos três instares larvais com seus respectivos espiráculos.....	17
Figura 4 - Vista lateral de <i>C. megacephala</i> adulta, em fase larval e estigma com espiráculos posteriores da espécie.....	18
Figura 5 - Estrutura química do fármaco anticonvulsivante, Carbamazepina.....	20
Figura 6 - Caixa do fármaco anticonvulsivante Carbamazepina.....	21
Figura 7 - Confeção da armadilha: a- garrafas cortadas; b- peças superiores acopladas; c- recipiente com a isca; d- disposição da isca na peça inferior da armadilha; e- armadilha montada.. ....	24
Figura 8 - Fotografias das armadilhas nos arredores do Depto. de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia (MIP/CCB/UFSC).....	25
Figura 9 - Fotografia das gaiolas de criação.....	26
Figura 10 - Fotografia da gaiola de criação com dieta artificial e água. ....	27
Figura 11 - Curva de desenvolvimento larval de <i>C. megacephala</i> expostas a diferentes concentrações de CBZ.....	29
Figura 12 - Comprimento médio e desvio-padrão das asas dos adultos emergidos de <i>C. megacephala</i> , expostos a diferentes concentrações de Carbamazepina. Cs – controle sem manipulação; C – Controle; DI – Dose Inicial; 10 DI – 10 vezes a Dose Inicial; 100 DI- 100 vezes. ....	32
Figura 13 - Tempo de desenvolvimento (hora) e desvio-padrão dos estágios larvais de <i>C. megacephala</i> expostas a diferentes concentrações de CBZ .....	33

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média e desvio padrão do comprimento em milímetros das larvas de *C. megacephala* registrado de 12h em 12h, expostas a diferentes concentrações de Carbamazepina (CBZ) ....29

Tabela 2 - Média da taxa de sobrevivência total e proporção sexual de *C. megacephala*, exposta a diferentes concentrações de CBZ em relação aos grupos controle (n=150).....34

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

**ANOVA** - Análise de Variância

**CBZ** – Carbamazepina

**DI**- Dose Inicial

**10 DI**- 10 Dose Inicial

**100 DI**- 100 Dose Inicial

**IPM** – Intervalo pós - morte

**OMS** – Organização Mundial da Saúde

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Entomologia Forense .....	13
1.2 Insetos necrófagos e sua relação com a estimativa do Intervalo Pós Morte .....	14
1.3 O inseto necrófago: <i>Chrysomya megacephala</i> (FABRICIUS, 1794) .....	16
1.4 Cenário mundial e nacional de intoxicações intencionais .....	18
1.5 Toxicologia e Entomotoxicologia Forense .....	19
1.6 Características relevantes do anticonvulsivante Carbamazepina .....	20
2. OBJETIVO GERAL .....	23
3. OBJETIVO ESPECÍFICOS .....	23
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	24
4.1 Coleta e manutenção dos insetos .....	24
4.2 Delineamento experimental .....	27
4.3 Análise de dados .....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	29
6. CONCLUSÃO .....	35
7. REFERÊNCIAS .....	36



## 1. INTRODUÇÃO:

### 1.1 Entomologia Forense

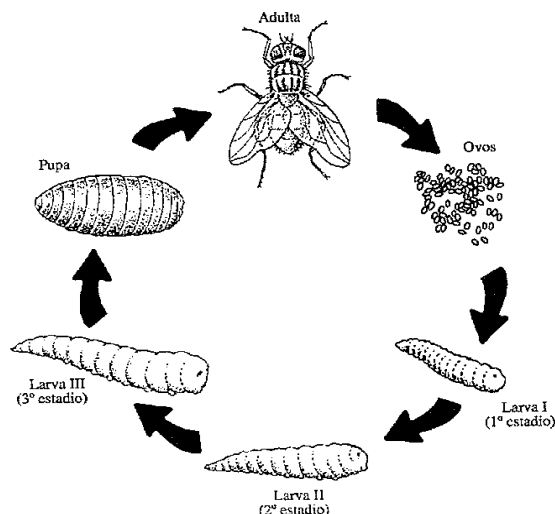
A entomologia forense pode ser compreendida como a ciência que tem como objeto de estudo os artrópodes e, através do conhecimento destes, podem ser considerados vestígios ou evidências, de uma possível cena criminal. Para isto, os artrópodes são coletados, analisados e estudados, com o objetivo de responder perguntas sobre o crime (CANDELA & AVENTAGGIATO, 2000).

Segundo Lord e Stevenson (1986), existem três subáreas da entomologia forense:

- I. Urbana: Analisa a presença de insetos em imóveis, estruturas e bens culturais;
- II. Produtos armazenados: Estuda a contaminação causada pelos artrópodes em produtos estocados e alimentos;
- III. Médico-Legal: Analisa casos de mortes violentas, sendo que os artrópodes podem servir de vestígios para estimar o intervalo pós-morte (IPM) além de outras informações sobre o crime.

No caso da entomologia forense médico-legal, os insetos são os principais atores neste estudo científico, pois diversas espécies deste grupo são atraídas pelos cadáveres, destacando-se primariamente as moscas (Diptera) e os besouros (Coleoptera) (BENECK, 2001).

Os insetos também se alimentam dos tecidos do cadáver e acabam por formar uma sucessão faunística, que é relacionada diretamente com o estágio de decomposição cadavérico. Então, reconhecendo as espécies envolvidas nestes diferentes estágios de decomposição e com a compreensão de taxas de desenvolvimentos dos insetos (ciclo de vida) (Figura 1), estas informações podem nos auxiliar a estimar o intervalo-pós-morte (IPM) e também a possível causa da morte (SMITH, 1986).



**Figura 1** - Ciclo de vida genérico das moscas. Fonte://allthatwewant.over-blog.com/article-6102088.html.

De acordo com Smith (1986), devemos atentar que nem todos os invertebrados encontrados em um cadáver estão realmente se alimentando e algumas categorias ecológicas são reconhecidas neste cenário. Existem espécies necrófagas (as quais se alimentam do tecido do cadáver e constituem a mais importante categoria para estimar o tempo de morte), os predadores e parasitoides (que predam ou parasitam os necrófagos), os onívoros (que se alimentam do cadáver e também das espécies necrófagas) e as espécies acidentais (que não se alimentam do cadáver ou de outras espécies, mas podem ser encontradas ocasionalmente no corpo em decomposição). Segundo Ortholoff *et al.* (2012), durante a decomposição cadavérica, a diversidade de insetos necrófagos presentes está diretamente relacionada com os fatores biogeoclimáticos. Deste modo, quando um inseto pode ser encontrado em dois tipos de região, tanto em área urbana quanto rural, este não é um bom indicador forense quanto à região. Para ser caracterizado como uma espécie indicadora forense, este inseto/mosca deve apresentar altas taxas de frequência em carcaças referentes a uma determinada região em comparação com outra localidade, que deve apresentar baixas porcentagens ou ausência total (TAVARES, 2003).

## 1.2 Insetos necrófagos e sua relação com a estimativa do Intervalo pós - morte

Alguns insetos necrófagos chegam ao local da morte em poucos minutos após o óbito, sendo o mais utilizado para servir de base na estimativa do IPM (CATTS & GOFF, 1992; ERZINCLIOGLU, 1996; ANDERSON, 2001). O Intervalo pós - morte é caracterizado por ser

o intervalo de tempo em que ocorreu a morte até o período em que o cadáver foi encontrado. Podendo ser estimado através de duas formas: a primeira é baseada no tempo de desenvolvimento da espécie coletada do cadáver e a segunda através das espécies da comunidade presente no cadáver levando-se em consideração que há uma sucessão dos animais que utilizam o corpo em decomposição (CATTS & GOFF, 1992)

A entomologia forense lida diretamente com o IPM mínimo, ou seja, o período em que o cadáver foi exposto e os insetos iniciaram a oviposição e alimentação dos tecidos cadavéricos. Para isso, os espécimes de mais avançado desenvolvimento serão coletados e deve-se levar em conta o conhecimento do ciclo de desenvolvimento destes, para que se saiba quanto tempo este inseto levou até chegar neste estágio de desenvolvimento (CATTS & GOFF, 1992). Esta estimativa, portanto, é diferente do tempo real da morte, ela leva em consideração o tempo mínimo necessário de exposição em que os insetos tiveram acesso ao corpo cadavérico (RICHARDS & VILLET, 2008). Portanto, pela dificuldade de afirmar o tempo transcorrido da morte e quando ocorreu exposição do cadáver ao ambiente, geralmente é estimado o IPM mínimo na entomologia forense.

Para a estimativa do IPM com base na sucessão entomológica da fauna cadavérica (IPM máximo), o corpo deve estar em intensa e avançada decomposição. Para melhor compreender este segundo método de estimativa, é essencial saber que a sucessão ecológica é caracterizada por ser a mudança de espécies de uma comunidade em diversas escalas, temporal e espacial (MIRANDA, 2009). Em sucessão de carcaças de animais, não há formação de clímax da comunidade, devido ao tempo relativamente curto do recurso exposto ao ambiente (SCHOENLY & REID, 1987). Portanto, mesmo em recursos efêmeros, a sucessão pode ser estabelecida pela colonização de diferentes organismos e por suas substituições conforme o processo de decomposição (CATTS & GOFF, 1992). Baseando-se então no arranjo da comunidade de artrópodes relacionados ao padrão de sucessão, é necessário observar os fatores diversos encontrados na cena criminal, que podem adiar e ou apressar o padrão sucessional, como por exemplo: tamanho da carcaça, estação do ano, habitat, temperatura, umidade, precipitação, fatores bióticos e modo de morte (OLIVEIRA COSTA, 2003; SANTOLIN, 2015; SMITH, 1986).

Através da identificação da espécie do inseto e seu habito de vida (urbano ou florestal/rural) é possível inferir se houve a movimentação do cadáver. Existem espécies que são restritas a um determinado habitat, sendo essenciais na revelação se a morte ocorreu em um



determinado local e a descoberta do corpo em outro (GENNARD, 2012). Também é possível descobrir a identidade de um cadáver em um estado avançado de decomposição e a identidade do autor de uma morte violenta através do exame de DNA do material ingerido pela larva das moscas ou para comprovação da presença de um suspeito na cena do crime pelo exame de DNA do material intestinal de insetos hematófagos, como mosquitos, por exemplo (MUMCUOGLU *et al.*, 2004; SKOWRONEK *et al.*, 2014).

A detecção de drogas, metais pesados, venenos ou remédios podem ser realizados em imaturos, pupas, adultos e até mesmo nas fezes de insetos encontrados no corpo em decomposição (AMENDT *et al.*, 2004). Portanto, as ferramentas entomológicas podem fornecer diversas informações essenciais para o entendimento da morte e do local do crime.

### 1.3 *Chrysomya megacephala* (FABRICIUS, 1794)

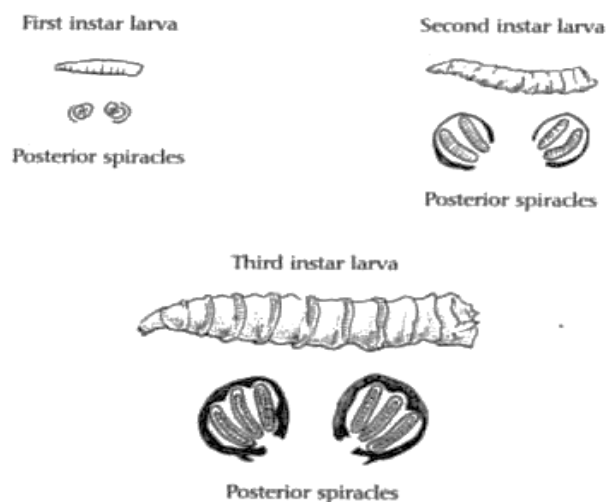
Existem quatro famílias de grande importância e interesse forense: Calliphoridae, Muscidae, Fanniidae e Sarcophagidae, no entanto, a influência e diversidade destas famílias podem variar de região a região, variando pela literatura (CATTS & GOFF, 1992; CARVALHO *et al.*, 2000; OLIVEIRA COSTA *et al.*, 2013). Já foram identificadas, segundo Brake *et al.* (2006), 116 espécies de Calliphoridae na região Neotropical. Dos gêneros da família Calliphoridae, o gênero *Chrysomya* se destaca pela ampla distribuição e diversidade de espécies nas Américas (KOSMANN, 2013), demonstrando grande relevância na ciência forense (GENNARD, 2012).

O trabalho pioneiro realizado em Santa Catarina, referente a fauna necrófaga em carcaça suína, destaca *Chrysomya megacephala* (Figura 2) como uma das espécies mais frequentes (JUK, 2013), no entanto, esta não é considerada uma boa indicadora forense quanto à região de mata, conforme visto por Thyssen (2000). Sendo considerada boa indicadora forense para áreas urbanas (SOUZA, 2009). Esta espécie é comumente conhecida como mosca varejeira, possuindo grande importância ecológica e médico-sanitária. São decompositoras de matéria orgânica, já que suas larvas se desenvolvem em organismos em decomposição, podendo reciclar nutrientes e destruir possíveis fontes de doenças (já que consomem rapidamente as carcaças expostas ao ambiente) (FURLANETTO *et al.*, 1984; VON ZUBEN, 1993; RUIZ, 2007).



**Figura 2** - *Chrysomya megacephala*. Fonte: <http://cookislands.bishopmuseum.org/species.asp?id=9197> e <https://flickr.com/photos/pondapple/9089189662>

O desenvolvimento de *C. megacephala*, assim como em outros califorídeos e dípteros, é holometábolo, apresentando os estágios de ovo, larva, pupa e adulto (SOUZA & KIRST, 2010; BARCELOS, 2014) sendo que o estágio de larva apresenta três instares larvais. No fim do terceiro instar, as larvas não se alimentam mais da carcaça e a abandonam, a procura de locais favoráveis para empupar e emergir na forma adulta (Figuras 3 e 4) (GOMES & ZUBEN, 2005; MOURA & ARANTES, 2013).



**Figura 3** - Esquema dos três instares larvais com seus respectivos estigmas com espiráculos. Fonte: [http://anilaggrawal.com/ij/vol\\_002\\_no\\_001/popular\\_books\\_002\\_001/page006.html](http://anilaggrawal.com/ij/vol_002_no_001/popular_books_002_001/page006.html)



**Figura 4** - Vista lateral de *C. megacephala* adulta, em fase larval e estigma com espiráculos posteriores da espécie. Adaptação de REZENDES *et al.*, 2014.

#### 1.4 Cenário mundial e nacional de intoxicações intencionais

No Brasil, as regiões metropolitanas concentram a maior proporção de mortalidade por violência, incluindo também suas causas específicas (homicídios, acidentes e suicídios) (MINAYO, 1994). Segundo a organização mundial da saúde foi estimado que, até 2020, mais de 1,5 milhões pessoas irão cometer suicídio, sendo possível também que haja aumento de 10 a 20 vezes nas tentativas de suicídio por intoxicações intencionais (BERTOLOTE & FLEISCHMANN, 2002).

O Brasil ocupa a 67ª posição em nível mundial na taxa de mortalidade por suicídio. No entanto, em números absolutos, o Brasil está na 10ª posição entre os países com mais mortes por suicídio (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999). Segundo a WHO (2014) mais de 800 mil pessoas tiram a própria vida por ano, sendo a segunda maior causa da morte de jovens de 15 a 29 anos. Somente no Brasil, ocorrem em média, 11 mil mortes por ano por suicídio, de acordo com o Sistema de Informação sobre mortalidade (BRASIL, 2017). Verificou-se, também, que entre 2011 e 2016 a grande maioria das tentativas de suicídios são por mulheres, com cerca de 69%. No entanto, os homens morrem mais por esta causa, totalizando 79% de ocorrência (BRASIL, 2017). Segundo Bortoletto e Bochner (1999), de um total de 40.918 casos de intoxicação humana relacionados à causa de suicídio, os fármacos foram apontados com 62% deste total como principal causa de intoxicação ou envenenamento proposital. Com o aumento de sua ocorrência, o suicídio e a tentativa de suicídio, se tornam um

grave desafio para a saúde pública, sendo necessário planejamentos e implementação de políticas públicas de saúde (DIEKSTRA, 1993; BRASIL, 1994).

Uma das tentativas de suicídio mais frequente tem sido pela intoxicação e ou envenenamento por ingestão de fármacos, especialmente os psicofármacos, sendo apontado como causa frequente nos atendimentos médico-hospitalares, com significativa taxa de mortalidade e morbidade (MANSUR *et al.*, 2008). Entre os psicofármacos, os ansiolíticos/hipnóticos, barbitúricos e antidepressivos foram os mais utilizados para suicídios (BUCKLEY *et al.*, 1995; MICHEL *et al.*, 1994).

Os benzodiazepínicos são frequentemente utilizados nas intoxicações intencionais totalizando 28% dos fármacos utilizados em suicídios, dos quais 13% utilizaram o Diazepam® nos anos de 2003 e 2004. Em seguida temos os anticonvulsivantes, formando o segundo maior grupo de incidência nas tentativas de suicídio em 2004 e o terceiro em 2003 e, deste grupo, se destacou a utilização de Carbamazepina com 6,28% e 10,47% respectivamente (CONCEIÇÃO FILHO *et al.*, 2001).

Desta forma, pelo o aumento do número de casos de suicídios ocasionados por intoxicação e/ou envenenamento por fármacos, este estudo objetiva estudar os efeitos da carbamazepina, de modo a auxiliar em investigações criminais em casos de suicídio.

### 1.5 Toxicologia e Entomotoxicologia Forense

A área de toxicologia forense é a ciência que pode auxiliar a perícia em casos de suicídio por ingestão de fármacos, revelando qual droga (fármacos, venenos, metais, drogas) que foi ingerida pelo indivíduo antes de sua morte (GOSSELIN *et al.*, 2011). Esta ciência estuda a identificação e os diversos efeitos de substâncias químicas no cadáver (PASSAGLI, 2013).

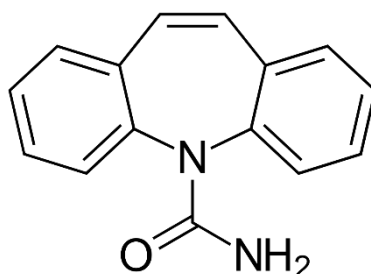
Os entomologistas iniciaram a análise de drogas em insetos necrófagos a partir de 1980, que ficou sendo conhecida como entomotoxicologia forense. Neste estudo de caso pioneiro, Beyer e colaboradores, narraram a presença de fenobarbital em larvas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius), estas foram coletadas e analisadas de um cadáver em intenso e avançado estado de decomposição (BYRD & PEACE, 2011).

Conforme o grau de decomposição do cadáver é possível realizar análises toxicológicas nos tecidos, porém, se os tecidos estiverem em intensa e avançada decomposição, a realização da análise toxicológica é impossibilitada (CANDELA & AVENTAGGIATO, 2000). Um dos métodos alternativos em casos de decomposição avançada dos tecidos corporais são os insetos, pois auxiliam na descoberta das toxinas presentes no cadáver por terem sido ingeridas pelo indivíduo em vida e que podem ter levado ao óbito (GOFF & LORD, 1994; INTRONA *et al.*, 2001). Os insetos necrófagos, como as moscas varejeiras, se alimentam dos tecidos e fluidos corporais do corpo cadavérico, consequentemente, ingerindo as toxinas presentes e o exame de toxicologia pode ser realizado nos espécimes encontrados (GOFF & GOODBROAD, 1989). Assim, conforme ressaltado por Soto (2008) é essencial se ter o conhecimento dos fármacos no desenvolvimento dos insetos necrófagos.

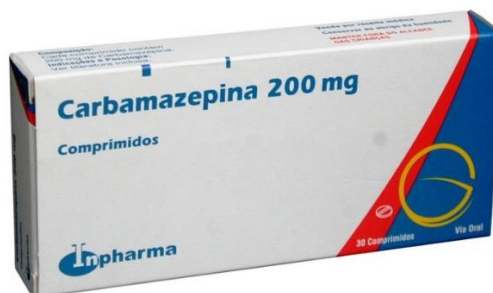
### 1.6 Características relevantes do anticonvulsivante Carbamazepina

A CBZ é um medicamento de uso contínuo, anticonvulsivante, para o tratamento de crises epilépticas parciais, neuralgia do trigêmeo, em convulsões parciais e/ou generalizadas, eficaz no tratamento da depressão bipolar e epilepsia. Esta droga (figura 5) é um derivado tricíclico da imipramina (antidepressivo) (KATZUNG, 1998; ARAÚJO *et al.*, 2010).

A estrutura química da droga é relativamente semelhante à da fenitoína (outro medicamento antiepilético), na qual a base ureídica (-N-CO-NH<sub>2</sub>) do anel heterocíclico, é comumente encontrada em outras drogas antiepiléticas, também está presente em CBZ (KATZUNG, 1998).



**Figura 5** - Estrutura química do fármaco anticonvulsivante, Carbamazepina. Fonte: Adaptado de KATZUNG, 1998).



**Figura 6** - Caixa do fármaco anticonvulsivante Carbamazepina. Fonte: <http://dicassobresaude.com/wp-content/uploads/2017/04/carbamazepina-1.jpg>

Segundo Araújo *et al.* (2010) este medicamento é administrado via oral, na forma de comprimidos, sendo absorvido quase inteiramente pelo trato gastrointestinal de maneira lenta e a dosagem deve ser ajustada de acordo com as necessidades do paciente.

Na utilização deste fármaco como anticonvulsivante é aconselhável que a dose inicial para os adultos seja de 200mg (duas vezes ao dia), sendo que a dose máxima tolerada nos pacientes maiores de 15 anos é de 1,2 gramas. A CBZ é um bloqueador neuronal dos canais de sódio voltagem dependentes, atuando como estabilizador de hiperexcitação das membranas das células nervosas, facilitando o efluxo de potássio (ARAÚJO *et al.*, 2010).

Conforme Katzung (1998), o mecanismo da ação anticonvulsivante de CBZ não foi esclarecido totalmente, havendo estudos que apontam este fármaco como inibidor da atividade do núcleo ventral anterior do tálamo, não havendo na literatura o que significa tal mecanismo.

Através da inibição da geração de potencial de ação das células neuronais, a CBZ pode exercer efeito potencializador da ação neuronal GABAérgica. Diversos sistemas de neurotransmissão são inibidos através do GABA, que funciona principalmente como depressor do Sistema Nervoso Central (ARAÚJO *et al.*, 2010). Segundo Katzung (1998) a diminuição da liberação de glutamato com a estabilização de membranas neuronais contribui para efeitos antiepiléticos e a CBZ atua em nível pré-sináptico (redução da neurotransmissão sináptica), podendo ser este o mecanismo principal de sua ação anticonvulsivante.

É importante ressaltar que a superdosagem ou a intoxicação devido ao uso da CBZ varia entre os diferentes indivíduos, levando-se em consideração a idade, peso e resposta individual do organismo ao medicamento. (MCLEAN & MACDONALD, 1986; DAVIES, 1995; ARAÚJO *et al.*, 2010). Conforme Katzung (1998), alguns dos sintomas que indicam

toxicidade por este fármaco iniciam com leves distúrbios gastrointestinais, instabilidade postural, quando em doses mais elevadas, sonolência e entre outros, sendo essencial um monitoramento cuidadoso.

A CBZ é absorvida quase completamente pelo trato gastrintestinal, de forma lenta, diferindo muito entre os pacientes, sendo que a maioria apresenta completa absorção completa (KATZUNG, 1998). Com a ingestão do fármaco por comprimido, o paciente apresenta pico plasmático médio de concentração da droga inalterada no plasma de 4,5 mcg/ml (aproximadamente) após 12h de uma única dose oral de 200 mg (ARAÚJO *et al.*, 2010). Segundo Araújo *et al.* (2010) este medicamento é metabolizado no fígado e o citocromo P450 (3A4) foi identificado como a principal isoforma responsável pela metabolização da CBZ em carbamazepina-10,11-epóxido.

Devido à alta incidência do anticonvulsivante CBZ para fins de suicídio, nos propomos a verificar se este medicamento influencia o desenvolvimento de *C. megacephala*, que é uma mosca frequentemente encontrada em cadáveres na região da grande Florianópolis (BARCELOS, 2014).

## 2. OBJETIVO GERAL:

- Verificar o efeito da CBZ no desenvolvimento de *Chrysomya megacephala*.

## 3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Observar se a CBZ influencia no tamanho e tempo de desenvolvimento de larvas de *C. megacephala*;
- Analisar a influência da CBZ no tamanho dos adultos, taxa de sobrevivência de imaturos e proporção sexual de adultos *C. megacephala*.



#### 4. MATERIAL E MÉTODOS:

##### 4.1 Coleta e manutenção dos insetos

Foram realizadas coletas das moscas em locais próximos ao Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia (MIP), do Centro de Ciências Biológicas (CCB), no *campus* da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), localizado no bairro Córrego Grande, município de Florianópolis, estado de Santa Catarina. Para isso, foram utilizadas armadilhas confeccionadas a partir de duas garrafas PET, conforme descrito por Ferreira (1978) (Figura 7 e 8). Como isca foi utilizado cerca de 50 g de carne bovina em um recipiente plástico coberto por voile, colocado ao fundo da armadilha, que fora trocada semanalmente. Estas armadilhas então foram colocadas em campo a uma distância aproximadamente de 1,5 m do solo, sendo averiguadas um dia sim, um dia não, por duas semanas para estabelecer a criação das moscas selvagens.



**Figura 7** - Confeção da armadilha: a- garrafas cortadas; b- peças superiores acopladas; c- recipiente com a isca; d- disposição da isca na peça inferior da armadilha; e- armadilha montada (Fonte: Paula dos Santos Barcelos).



**Figura 8** - Fotografias das armadilhas nos arredores do Depto. de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia (MIP/CCB/UFSC). Fonte: Arquivo Pessoal.

Os insetos coletados foram transferidos para gaiolas de acrílico, com dimensões de 39 x 39 x 39 cm. Estas gaiolas têm duas aberturas laterais cobertas por voal e mais duas aberturas no formato circular na frente, na qual há mangas de tecido para facilitar o acesso para parte interior da gaiola. As moscas foram mantidas nestas gaiolas por aproximadamente 48 h para o inseto se ambientar ao laboratório. Após este tempo, com auxílio de um tubo plástico, as moscas foram capturadas e anestesiadas pelo frio por cerca de 1 a 2 minutos, transferidas para placas de Petri e identificadas com auxílio de chaves dicotômicas. Quando se tratava de *C. megacephala*, as moscas foram transferidas para as gaiolas de criação idênticas às descritas anteriormente (Figura 9).



**Figura 9** - Fotografia das gaiolas de criação. Foto: Arquivo pessoal.

Na gaiola era colocada uma placa de Petri contendo 50g de carne moída bovina para oviposição. As larvas recém-eclodidas ou os ovos foram transferidos para um frasco plástico com 100gr de carne bovina, que era colocado dentro de outro recipiente de plástico maior com serragem no fundo para servir de substrato para empupação.

Após a emergência, as moscas adultas (F1) foram transferidas para uma gaiola de criação, sendo alimentadas com a dieta artificial e foi oferecido fígado bovino moído para maturação dos ovários (GRASSBERGER & REITER, 2001).

A dieta artificial destas moscas é composta por leite em pó, levedo de cerveja e açúcar (em igual proporção), com a adição de água destilada para formar uma massa com textura pastosa. Além disso, foi adicionada ao lado da comida, uma placa com algodão embebido em água destilada conforme a figura 10. Tanto a dieta quanto o algodão com água foram regularmente trocadas, sendo que a limpeza das gaiolas foi feita semanalmente.



**Figura 10** - Fotografia da gaiola de criação com dieta artificial e água. Foto: Arquivo pessoal.

#### **4.2 Delineamento experimental**

Após 3 a 5 dias sendo alimentadas com a dieta artificial, um recipiente com carne moída foi colocado nas gaiolas das moscas da geração F1. Após as 12 horas da oviposição, este recipiente foi retirado da gaiola e 50 larvas L1 foram transferidas para cada recipiente contendo 75gr de carne moída bovina misturado com diferentes concentrações do fármaco. Como controle, 50 larvas foram transferidas para um recipiente com 75g de carne moída sem o fármaco (controle). Todos os tratamentos e controle foram realizados em triplicatas. Os tratamentos realizados foram 0,43 mg de CBZ em 75g de carne (DI – 400 mg/kg - Dose inicial recomendada para humanos do medicamento), 4,3mg de CBZ em 75gr de carne moída (10 DI) e 43 mg de CBZ em 75g de carne moída (100 DI – dose letal).

De 12h em 12h, 2 larvas foram retiradas de cada tratamento e foram submersas em água a 60°C, para morrerem distendidas, facilitando a posterior medição do tamanho corporal. O processo se repetiu até ser observada a primeira pupa. As pupas foram também observadas de 12 em 12 horas até a emergência em adultos que foram sexados e a asa esquerda foi medida da alúla até a ponta da asa. Para a medição das larvas e asa dos adultos foi utilizado um paquímetro digital.

Para a verificação da influência da manipulação das larvas na sobrevivência dos insetos, foi realizado um controle sem a manipulação das larvas. Esse controle foi observado

de 12 em 12 horas e o número de adultos foi contabilizado, sexados e tiveram sua asa esquerda medidas com auxílio de um paquímetro digital.

### **4.3 Análise dos dados**

Os dados foram analisados estatisticamente com auxílio do software Graph Pad (prism 7.0) e o nível de significância adotado foi de  $p \leq 0,05$ . O teste de Kolmogorov – Smirnov foi utilizado para analisar a normalidade dos dados e one-way ANOVA para avaliar a diferença entre os tratamentos e destes com o controle. O teste qui-quadrado foi utilizado para avaliar a proporção de 1:1 entre machos e fêmeas.

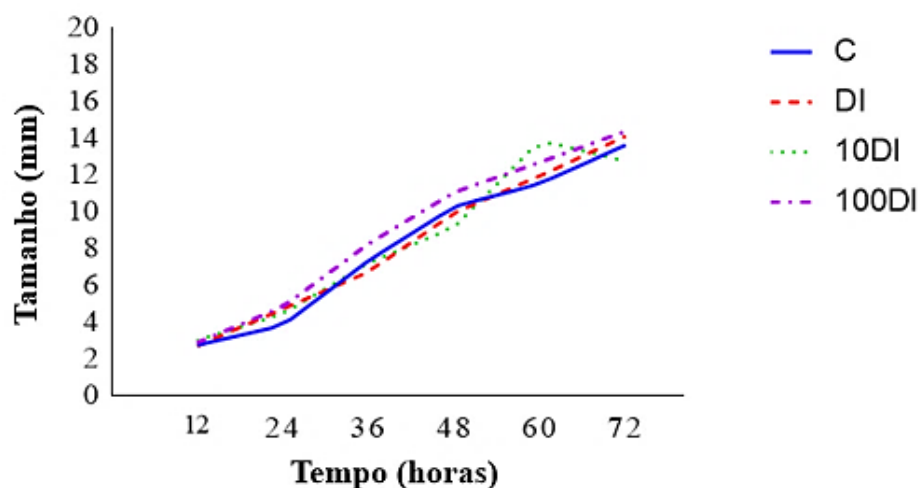
## 5. Resultados e Discussão:

As médias do tamanho larval nos grupos expostos a CBZ e o controle estão mostradas na tabela 1. Podemos observar que, com o passar das horas/dias as larvas cresceram em todos os grupos. As curvas de desenvolvimento larval até 72 horas estão demonstradas na Figura 11.

**Tabela 1** - Média e desvio padrão do comprimento em milímetros das larvas de *C. megacephala* registrado de 12h em 12h, expostas a diferentes concentrações de Carbamazepina (CBZ).

<i>Idade (horas)</i>	<i>Controle (Sem manipulação)</i>	<i>Dose Inicial</i>	<i>10 Dose Inicial</i>	<i>100 Dose Inicial</i>
12	2,73±0,32	2,67±0,24	2,99±0,26	2,86±0,52
24	3,8±0,65	4,69±0,46	4,42±1,35	4,81±1,44
36	7,32±0,78	6,71±0,87	7,19±0,98	8,24 ±0,80
48	10,26±0,87	9,92±2,10	9,13±2,53	11,04±1,42
60	11,51±2,5	11,93±3,12	13,8±1,8	12,67±1,49
72	13,61±1,53	14,08±0,39	12,7±2,44	14,35±1,40

One-Way ANOVA 12h: (F=0,8018; p=0,479), 24h (F=1,12; p=0,363), 36h (F=3,128; p=0,087), 48h (F=1,448; p=0,278), 60h (F=1,24; p=0,321); 72h (F=1,611; p=0,248).



**Figura 11** - Curva de desenvolvimento larval de *C. megacephala* expostas a diferentes concentrações de CBZ.

Conforme os resultados da ANOVA informados na tabela, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no tamanho médio das larvas mantidas em carne moída bovina misturada com diferentes quantidades de CBZ entre si e em comparação ao grupo controle (Tabela 1). Nota-se, na figura 11, que houve um aumento de tamanho das larvas com o passar do tempo. Porém, sem diferenças estatísticas, como já informado acima.

A CBZ é um dos principais medicamentos anticonvulsivantes, amplamente utilizados, sendo caracterizada como uma droga psicotrópica (ação direta no sistema nervoso central). Porém, não foi encontrado nenhum trabalho sobre a influência deste fármaco no desenvolvimento pós-embrionário de insetos com importância forense. Outros fármacos psicotrópicos como os barbitúricos, um grupo de drogas antiepiléticas muito eficaz que afeta a duração e intensidade de crises epiléticas em humanos (RANG & DALE, 2007), já foi testada contra insetos de interesse forense. Soto (2008) analisou a interferência de dois tipos de barbitúricos (Fenobarbital e Tiopental) na taxa de desenvolvimento de três espécies de califórídeos (*Chrysomya albiceps*, *C. megacephala* e *Chrysomya putoria*), através da medição do ganho de peso das larvas, comprimento em milímetros e de sua sobrevivência, foi possível concluir que os dois barbitúricos afetaram significativamente o tempo de desenvolvimento larval das três espécies, sendo que em *C. megacephala*, a susceptibilidade foi maior para tiopental do que para fenobarbital. A espécie apresentou 100% de mortalidade nas doses supra letal e letal do fármaco, não chegando a fase de pupa. As três espécies apresentaram sensibilidade diferente aos fármacos e suas dosagens.

Em outro estudo Thyssen e Grella (2011) testaram o efeito de escopolamina em *C. putoria* e relatam que o aumento da concentração da droga na dieta influencia negativamente no ganho de peso das larvas e em altas concentrações diminui a taxa de sobrevivência.

Rezende *et al.* (2014) utilizaram as larvas das espécies de *C. albiceps*, *C. megacephala* e *C. putoria* para avaliar o efeito de diferentes concentrações de cloridrato de metilfenidato, fenobarbital e a associação entre eles no desenvolvimento pós-embrionário dos insetos, e mostraram que para *C. albiceps* o tempo de desenvolvimento foi adiado em 24 h no grupo que ingeriu cloridrato de metilfenidato e em 12 h no grupo que ingeriu fenobarbital e no grupo que ingeriu a associação de drogas. Porém esse efeito somente foi observado em instares específicos para *C. megacephala*, sem alterar o tempo de desenvolvimento total. Para *C. putoria*, o tempo de desenvolvimento foi adiado em 12 h para grupo alimentado com cloridrato



de metilfenidato e em 24 h para os grupos alimentados com fenobarbital e com a associação de drogas.

Outros psicotrópicos, como o topiramato, que é amplamente utilizado para crises epiléticas, convulsões e dores de cabeça, influencia negativamente no crescimento da *C. megacephala* (PEREIRA, 2011) e o diazepam também reduz o tempo de desenvolvimento e retarda o ganho de massa de *C. megacephala* (GOMES, 2006).

Fármacos de outra natureza também podem influenciar no desenvolvimento de moscas. Trivia (2017) analisou o efeito de drogas utilizadas como quimioterápicos (ciclofosfamida e metotrexato) no desenvolvimento de *C. megacephala* e verificou que a ciclofosfamida atrasa o tempo de desenvolvimento, mas não alterou a mortalidade dos insetos, e que a dieta com metotrexato faz com que larvas e adultos cresçam menos que as larvas do grupo controle e apresentam maior mortalidade, mas não influencia no tempo de desenvolvimento de *C. megacephala*.

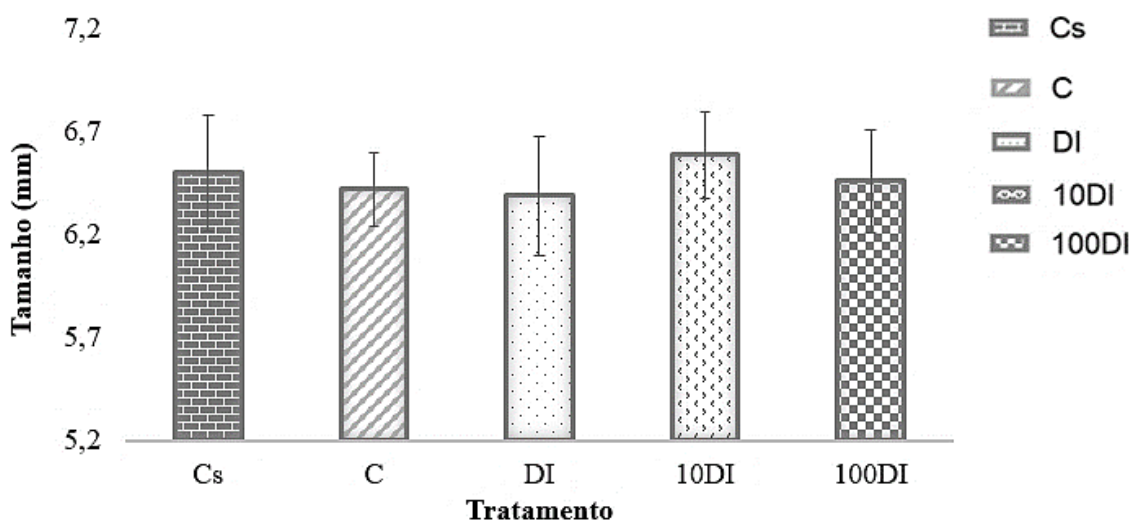
Embora a maioria dos fármacos tenha um efeito negativo para o desenvolvimento de moscas, foi demonstrado que a cocaína apressa o desenvolvimento de *C. albiceps* e *C. putoria*. Doses letais da substância foram injetadas em ratos e depois o fígado foi oferecido para as larvas das moscas e foi constatado que *C. albiceps* apresentou desenvolvimento mais veloz em comparação com *C. putoria*. No entanto, de maneira geral, as duas espécies apresentaram desenvolvimento mais veloz e maior taxa de sobrevivência nos grupos experimentais do que no grupo controle (CARVALHO *et al.*, 2012)

Em outros trabalhos, a inclusão de um fármaco na dieta das moscas alterou seu desenvolvimento. Moretto (2011) observou que o citalopram acelera o crescimento de *C. megacephala* em baixas concentrações e em altas concentrações, tende a retardar e Carvalho *et al.* (2001) observaram que o Diazepam também acelera o crescimento de *C. putoria* e *C. albiceps*.

Também não houveram diferenças estatísticas em relação ao comprimento médio das asas dos adultos emergidos de *C. megacephala* dos diferentes grupos em relação ao controle ( $F=2,306$ ,  $p=0,225$ ) e ao controle sem manipulação, como podemos observar na Figura 12. Segundo Reigada e Godoy (2006) fatores como a densidade larval e a temperatura influenciam no tamanho dos adultos de *C. megacephala*. Embora existam poucos relatos na literatura sobre a consequência da ingestão de fármacos pela larva no tamanho dos adultos, Trivia (2017) verificou que o quimioterápico metotrexato diminui o tamanho das larvas e dos



adultos de *C. megacephala* e que isto não é observado para outro quimioterápico, a ciclofosfamida. Mostrando que ocorre dose-dependência, quanto maior a dosagem do metotrexato, mais acentuado é o retardamento do tamanho das larva e adultos.



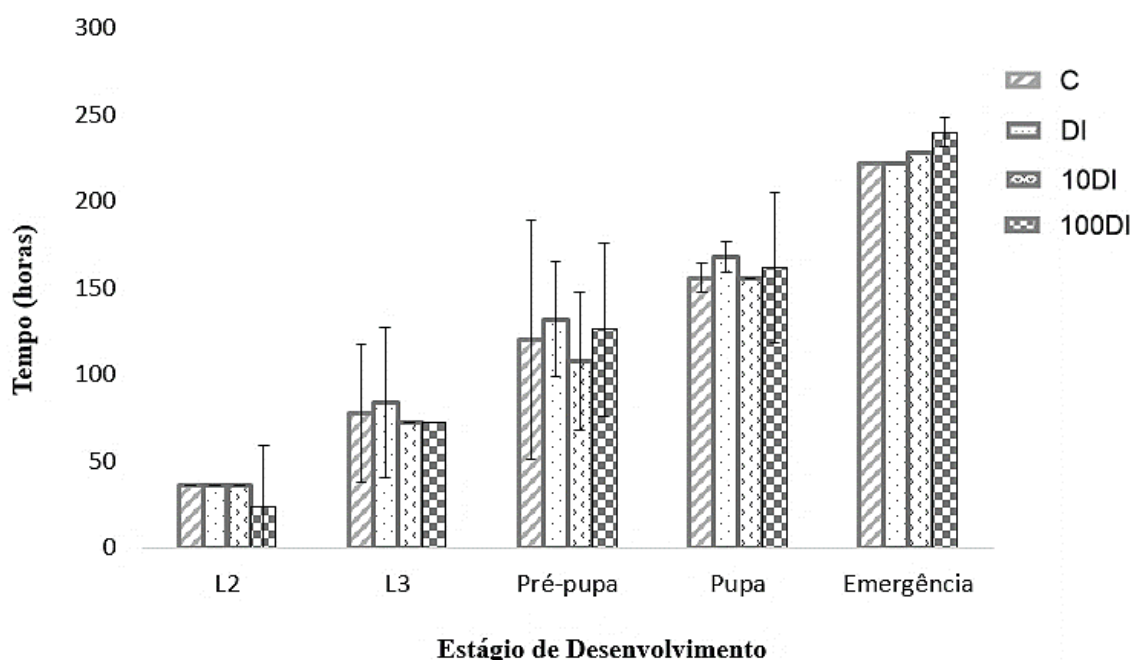
**Figura 12** - Comprimento médio e desvio-padrão das asas dos adultos emergidos de *C. megacephala*, expostos a diferentes concentrações de Carbamazepina. Cs – controle sem manipulação; C – Controle; DI – Dose Inicial; 10 DI – 10 vezes a Dose Inicial; 100 DI- 100 vezes.

Já que segundo Goodbrod e Goff (1990) e Reis e colaboradores (1994) a quantidade e qualidade da alimentação durante o desenvolvimento larval influencia diretamente no tamanho final do adulto. Assim, como os insetos alimentados com carne misturada com CBZ, não diferiram do grupo controle em termos do tamanho do adulto, podemos inferir que as larvas se alimentaram normalmente nos grupos experimentais, não havendo diminuição na ingestão da dieta quando misturadas ao fármaco. Também não houve diferença significativa entre o controle com manipulação e sem manipulação das larvas, mostrando que, neste caso, a manipulação não interferiu no tamanho dos adultos.

A figura 13 mostra o tempo de desenvolvimento de cada ínstar larval nos grupos experimentais e controle. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos no tempo de desenvolvimento para cada estágio larval ( $F=1,196$ ,  $p=0,351$ ). No entanto, podemos perceber que nos tratamentos com concentrações 10 DI e 100 DI de CBZ, as pupas demoraram, em média, 12h e 24h, respectivamente, a mais para emergir em relação ao grupo controle ( $F=422,6$ ,  $p=0,0001$ ). Este resultado está de acordo com o relatado por outros autores que alguns fármacos ocasionam um atraso no tempo total de desenvolvimento de

moscas. Soto (2008) relata que o fenobarbital também ocasionou um atraso na emergência de *C. megacephala* de 60 horas. Já Carvalho *et al.* (2001), relata que o fármaco diazepam acelerou a emergência das espécies *C. putoria* e *C. albiceps*.

Segundo Trivia (2017), a ciclofosfamida, em alta concentração, ocasionou um atraso no tempo de pupariação e emergência, devendo ser levado em consideração na estimativa do IPM. Quanto as diferentes dosagens de CBZ, deve-se levar em consideração a dose supra-letal e letal da substância no desenvolvimento de *C. megacephala*. Principalmente, se esta espécie for utilizada para estimação do IPM, já que ocasiona atraso significativo na emergência do adulto.



**Figura 13** - Tempo de desenvolvimento (hora) e desvio-padrão dos estágios larvais de *C. megacephala* expostas a diferentes concentrações de CBZ.

A tabela 2 mostra a taxa de sobrevivência total (até o estágio adulto) de *C. megacephala* e a proporção sexual em todos os grupos e controle. A sobrevivência variou de 25,30% a 45,30% entre os grupos, não havendo diferenças significativas ( $p= 0,140$ ). Já a porcentagem de machos variou de 40% a 57% e de fêmeas de 43% a 60%. O teste qui-quadrado mostrou que não houveram diferenças entre os grupos quanto a proporção sexual esperada de 1:1.

**Tabela 2** - Média da taxa de sobrevivência total e proporção sexual de *C. megacephala*, exposta a diferentes concentrações de CBZ em relação aos grupos controle (n=150).

Tratamento	Porcentagem de Sobrevivência Total	Proporção Sexual	
		Machos	Fêmeas
Controle s/ manipulação larval	45,30%	53%	47%
Controle c/ manipulação larval	23,30%	40%	60%
Dose Inicial	35,30%	57%	43%
10 Dose Inicial	31,30%	40%	60%
100 Dose Inicial	31,70%	48%	52%

Este resultado, quanto a taxa de sobrevivência, está de acordo com o encontrado por Dias (2014) que também verificou que a fluoxetina não alterou a taxa de sobrevivência de *Calliphora vicina*. Apesar do fármaco influenciar negativamente no tamanho das larvas e sobrevivência, conforme o aumento da substância no substrato alimentar.

Diferentemente, do resultado mostrado acima, segundo Carvalho *et al.* (2012), foi avaliado que os grupos experimentais no qual as larvas de *C. albiceps* e *C. putoria* se alimentaram do fígado com cocaína, apresentaram maior taxa de sobrevivência. Concluindo-se que cocaína favoreceu e permitiu uma maior sobrevivência das espécies, comparados aos grupos controle.

Porém, outros fármacos diminuíram a taxa de sobrevivência de *C. megacephala* com o antidepressivo citalopram (MORETTO, 2011) e de *C. albiceps*, *C. megacephala* e *C. putoria* com a metanfetamina e o ecstasy (LIMA, 2009). Em doses supra-letais e letais de Tiopental *C. megacephala* apresentou 100% de mortalidade, não chegando ao estágio de pupa (SOTO, 2008) e no estudo com escopolamina no substrato alimentar de *C. putoria*, também em doses letais, houve grande taxa de mortalidade e retardo no crescimento e ganho de peso (THYSSEN, 2011).

Desta forma, podemos concluir que o fármaco CBZ retarda o tempo de emergência de *C. megacephala*, sem alterar a proporção sexual, sobrevivência larval e tamanho das larvas e adultos.

## 6 Conclusões

- A CBZ atrasou o tempo de emergência de *C. megacephala*, em 12 horas na concentração de 10 vezes a dose inicial e 24 horas na concentração de 100 vezes a dose inicial, o que deve ser levado em consideração se for estimado o IPM com base no desenvolvimento de larvas da espécie, expostas a altas concentrações do fármaco;
- A CBZ não influencia no tamanho das larvas e na sobrevivência de larvas de *C. megacephala*;
- A proporção sexual e o tamanho dos adultos não é alterada quando as larvas são expostas a CBZ.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMENDT, J.; KRETTEK, R.; ZEHNER, R. **Forensic Entomology**. Naturwissenschaften, v. 91, p. 51-65, 2004.

ANDERSON, G. S. **Succession on carrion and its relationship to determining time of death**. In: BYRD, J. H.; CASTNER, J. L. Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations. Boca Raton: CRC, p. 143-175, 2001.

ARAÚJO, D. S.; SILVA, H. R. R.; FREITAS, R. M. **Carbamazepina: uma revisão de la literatura**. Revista Eletrônica de Farmácia, v. 7, p. 30 - 45, 2010.

BARCELOS, P. S. **Desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (fabricius, 1794) (diptera: calliphoridae) em temperatura ambiente e o efeito de baixas temperaturas sobre a eclosão dos ovos**. Trabalho de Conclusão de Curso, Graduação Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, p. 1 – 54, 2014.

BENECKE, M. **A brief history of forensic entomology**. Forensic Science International, Lausanne, v.120, p. 2-14, 2001.

BERTOLETE, J. M.; FLEISCHMANN, A. **A global perspective in the epidemiology of suicide**. Suicidologi, v. 7, p. 6-8, 2002.

BORTOLETTO, M.E.; BOCHNER, R. **Impacto dos medicamentos nas intoxicações humanas no Brasil**. Cad. Saúde Pública, v.15, p. 859-869, 1999.

BRAKE, I.; THOMPSON, F. C. **Nomenclator and Diptera references**. 2006. Disponível em: [www.diptera.org](http://www.diptera.org). Acessado em: 15 de novembro de 2016.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Mortalidade Brasil**. Brasília: CENEPI/Fundação Nacional de Saúde, 1994.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Agenda Estratégica de Prevenção do Suicídio**. Brasília: CENEPI/Fundação Nacional de Saúde, 2017.

BUCKLEY, N. A.; WHITE, I. M.; DAWSON, A. H.; MCMANUS P. R.; FERREUSON, N. W. **Selfpoisoning in new Castle, 1987-1992**. Medical Journal Australian, v.162, p.190-193, 1995.

BYRD, J. H.; PEACE, M. R. **Entomotoxicology: Drugs, Toxins, and Insects**. Forensic Chemistry Handbook, p. 483-99, 2011.

CANDELA, R. G.; AVENTAGGIATO L. **The detection of toxic substances in entomological specimens**. International Journal of Legal Medicine, v.114, p. 197–203, 2000.

CARVALHO, L. M. L.; LINHARES, A. X.; PALHARES, F. A. B. **The effect of cocaine on the development rate of immatures and adults of *Chrysomya albiceps* and *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) and its importance to postmortem interval estimate**. Forensic Science International, v. 220, p. 27-32, 2012.

CARVALHO, L. M.; LINHARES, A. X.; TRIGO, J. R. **Determination of drug levels and the effect of diazepam on the growth of necrophagous flies of forensic importance in southeastern Brazil**. Forensic Science International, v. 120, p. 140-4, 2001.

CARVALHO, L. M.; THYSSEN, P. J.; LINHARES, A. X.; PALHARES, F. A. **B. A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in Southeastern Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 95, p. 135 - 138, 2000.

CATTS, E. P.; GOFF, M. L. **Forensic entomology in criminal investigations.** Annual Review of Entomology, v. 37, p. 253-272, 1992.

CONCEIÇÃO FILHO, J. N.; MENEZES, C. A. S.; SILVA, P. O.; ANDRADE S. A. B.; ARAÚJO, T. S.; PIMENTA, H. C. **Uso de psicofármacos em tentativas de suicídio - registros do ciave em 2004-2006.** Revista Brasileira de Toxicologia, v. 14, p.74-78, 2001.

COSTA, Á. R; CORRÊA, P. C; PARTATA, A. K. **Epilepsia e os fármacos mais utilizados no seu tratamento.** Revista Científica do ITPAC, v. 5, p. 1-6, 2012.

DAVIES, J. A. **Mechanisms of action of antiepileptic drugs.** Seizure, v. 4, p. 267-271, 1995.

DIAS, I. M. E. **Efeito da fluoxetina no desenvolvimento de formas imaturas de Calliphora vicina (Diptera: Calliphoridae).** Dissertação de Mestrado, Ciências Forenses, Instituto Superior de Ciências da Saúde – Norte, Portugal, 2014.

DIEKSTRA, R.F.W. **The epidemiology of suicide and parasuicide.** Acta Psychiatr Scand, v. 371, p. 9-20, 1993.

ERZINCLIOGLU, Y. Z. **Blowflies.** Great Britain: Richmond Publishing Co.,1996.

FERREIRA, M. J. M. **Sinantropia de dípteros muscoideos de Curitiba, Paraná.** Calliphoridae. Revista Brasileira de Biologia, v. 38, p. 445-454, 1978.

FURLANETTO, S. M. P.; CAMPOS, M. L. C.; HÁRSI, C. M.; BURALLI, G. M.; ISHIHATA, G. K. **Microrganismos enteropatogênicos em moscas africanas pertencentes ao gênero *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) no Brasil.** Revista de Microbiologia, v. 15, p. 170-174, 1984.

GENNARD, D. **Forensic entomology: an introduction.** Oxford: John Willey & Sons Ltd., p. 272, 2012.

GREENBERG, B. **Behavior of postfeeding larvae of some Calliphoridae and amuscid (Diptera).** Annals of the Entomological Society of America, v. 83, p. 1210-1214, 1990.

GOFF M.L.; LORD W.D. **Entomotoxicology: a new area for forensic investigation.** The American Journal of Forensic Medicine and Pathology, v. 15, p. 51-57, 1994.

GOFF M. L.; OMORI A. L.; GOODBROAD J. R. **Effect of cocaine in tissue on the development rate of *Boettcherisca peregrina* (diptera: Sarcophagidae).** Journal of Medical Entomology, v. 26, p. 91-93, 1989.

GOODBROD, J. R.; GOFF, M. L. **Effects of larval population density on rates of development and interactions between two species of *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) in laboratory culture.** Journal of Medical Entomology, v. 27, p. 338-43, 1990.



GOMES, G. **Processos Auto-organizados: Efeitos de substâncias químicas que agem no sistema nervoso sobre o desenvolvimento e padrão de dispersão larval pós-alimentar de dípteros (Calliphoridae e Muscidae).** Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2006.

GOMES, L.; ZUBEN, C.J. **Postfeeding radial dispersal in larvae of *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae): implications for forensic entomology.** Forensic Science International, v. 55, p. 61- 64, 2005.

GOMES, L.; VON ZUBEN, C. J.; SANCHES, M. R. **Estudo da dispersão larval radial pós- alimentar em *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae).** Revista Brasileira de Entomologia, v. 47, p. 229- 234, 2003.

GOSSELIN, M.; WILLE, S.; FERNANDEZ, M.; FAZIO V.; SAMYN, N.; BOECK G.; BOUREL, B. **Entomotoxicology, experimental set-up and interpretation for forensic toxicologists.** Forensic Science International, v. 208, p. 1-9, 2011.

GRASSBERGER, M.; REITER, C. **Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen- and isomorphen- diagram.** Forensic Science International, v. 120, p. 32-36, 2001.

INTRONA, F.; CAMPOBASSO, C. P.; GOFF, M. L. **Entomotoxicology.** Forensic Science International, v. 120, p. 42-47, 2001.

JUK, L. B. **Levantamento da fauna de artrópodes em carcaça de suíno em ambiente silvestre com vegetação de restinga na Ilha de Santa Catarina como subsídio para as ciências forenses.** Trabalho de Conclusão de Curso, Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis p. 1-79, 2013.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia: Básica & Clínica**. 6<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro, 1998.

KOSMANN, C. **Calliphoridae (Diptera): identificação, sinantropia e análise microbiológica**. Tese de Doutorado em Biologia Animal, Universidade de Brasília, p. 1- 234, Brasília, 2013.

LIMA, C. G. P. **Deteção e estudo sobre o efeito da metanfetamina e do ecstasy no desenvolvimento de imaturos de três espécies de Chrysomya (Díptera: Calliphoridae) de importância forense**. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu, 2009.

LORD, W. D.; STEVENSON, J. R. **Directory of forensic entomologists**. Annual review of entomology, Washington, v. 37, p. 253-272, 1986.

MANSUR, C. G.; GOUVÊA, F. S.; BORELLI, D.; CASTELLANA, G. B.; BERNIK, V. **Envenenamentos por psicofármacos**. Revista Brasileira de Medicina, v. 65, p. 320-325, 2008.

MCLEAN, M. J.; MACDONALD, R. L. **Carbamazepine and 10,11-epoxycarbamazepine produce use- and voltage-dependent limitation of rapidly firing action potentials of mouse central neurons in cell culture**. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics v. 238, p. 727-738, 1986.

MICHEL, K.; ARESTEGUI, G.; SPUHLER, T. **Suicide and Psychotropia drugs in Switzerland**. Pharmacopsychiatry, v. 27, p. 114-118, 1994.

MINAYO, M. C. S. **Social Violence from a Public Health Perspective.** Cadernos de Saúde Pública, v.10, p. 07-18, 1994.

MIRANDA, J. C. **Sucessão ecológica: conceitos, modelos e perspectivas.** SaBios Revista de Saúde e Biologia, v. 4, p. 31-37, 2009.

MOURA, R. L.; ARANTES, L. C. **Principais dípteros necrófagos observados em carcaças oriundas de diferentes regiões biogeoclimáticas do Brasil.** Universidade Federal de Goiás, p. 1-20, 2013.

MORETTO, R. E. **Efeito de Citalopram no desenvolvimento larval de Chrysomya megacephala (F.) (Diptera: Calliphoridae) para uso forense.** Trabalho de Conclusão de Curso, Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2011.

MUMCUOGLU, K.; GALLILIN.; RESHEF A.; BRAUNER P.; GRANT P. **Use of human lice in forensic entomology.** Journal of Medical Entomology, v.41, p. 803–806, 2004.

OLIVEIRA-COSTA, J.; OLIVEIRA, R.G.; BASTOS, C.S. **Diptera Calliphoridae de importância forense no município do Rio de Janeiro.** Revista Eletrônica Novo Enfoque, v. 16, p. 41 – 52, 2013.

OLIVEIRA-COSTA, J. **Entomologia forense: quando os insetos são os vestígios.** In Tratado de perícias criminalísticas. Millennium, 2003.

ORTHOLOFF A.; PEÑA P.; RIQUELME M. **Preliminary study of the succession pattern of necrobiont insects, colonising species and larvae on pig carcasses in Temuco (Chile) for forensic applications.** Forensic Science International, v.222, p.36-41, 2012.

PASSAGLI, M. F. Princípios e áreas da toxicologia. **Toxicologia Forense: Teoria e Prática**. 4. ed. Campinas: Millenium, p. 4-6, 2013.

PEREIRA, M. C. **Ação de topiramato sobre o desenvolvimento larval de chrysomya megacephala (fabricius) (diptera: calliphoridae)**. Trabalho de Conclusão de curso, Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2011.

RANG, H. P.; DALE, M. M. **Fármacos Antiepiléticos**. Farmacologia. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 575-587, 2007.

RICHARDS, C. S.; VILLET, M. H. **Factors affecting accuracy and precision of thermal summation models of insect development used to estimate post-mortem intervals**. International Journal of Legal Medicine, v. 122, p. 401 – 408, 2008.

REIS, S. F.; GODOY, W. A. C.; VON ZUBEN, C. J & RIBEIRO, O. B. **Variação em caracteres bionômicos em função de densidade larval em Chrysomya megacephala e Chrysomya putoria (Diptera, Calliphoridae)**. Revista Brasileira de Entomologia, v. 38, n. 1, p. 33-34, 1994.

REZENDE, F.; ALONSO, M. A.; SOUZA, C. M.; THYSSEN, P. J.; LINHARES, A. X. **Developmental rates of immatures of three Chrysomya species (Diptera: Calliphoridae) under the effect of methylphenidate hydrochloride, phenobarbital, and methylphenidate hydrochloride associated with phenobarbital**. Parasitology research, v. 113, p. 1897-1907, 2014.

REIGADA, C.; GODOY, W. A. C. **Larval density, temperature and biological aspects of Chrysomya megacephala (Diptera: Calliphoridae)**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 58, p. 562-566, 2006.

RUIZ, R. A. Aspectos da biologia larval de *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera : calliphoridae): curva de crescimento e período de mais rápido desenvolvimento larval. Trabalho de Conclusão de Curso, Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista, Rio claro, p. 1-89, 2007.

SANTOLIN, S. F. Calliphoridae e Sarcophagidae (diptera) indicadores de estágios de decomposição e sucessão ecológica em carcaças de porcos de pequena biomassa. Tese de doutorado, Programa de pós-graduação em ecologia, Universidade de Brasília, 2015.

SCHOENLY, K.; REID, W. Dynamics of heterotrophic succession in carrion arthropod assemblages: discrete seres or a continuum of change? Oecologia, v. 73, p. 192-202, 1987.

SKOWRONEK, R.; TOMSIA, M.; DROŰDZIOK, K. Insects feeding on cadavers as an alternative source of human genetic material. Medical University Of Silesia, v. 64, p. 1-14, 2014.

SMITH, K. G. V. A manual of forensic entomology. Cornell University Press, New York, 1986.

SOTO, D. A. E. Avaliação da taxa de desenvolvimento de três espécies califorídeos (Díptera) de importância forense sob o efeito de dois barbitúricos. Tese de doutorado, Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, p. 1-82, 2008.

SOUZA, A. S. B. D. Calliphoridae (Diptera) associados a cadáver de porco doméstico *Sus scrofa* (L.) na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. Dissertação de

Mestrado, Biologia Tropical e Recursos Naturais, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2009.

SOUZA, A. S. B.; KIRST, F. D. **Aspectos da bionomia e metodologia de criação de dípteros de interesse forense.** In: Gomes, L (Org.). Entomologia Forense: novas tendências e tecnologias nas ciências criminais. Rio de Janeiro: Technical Books, p. 169 - 182, 2010.

TAVARES, M. C. H. **Sucessão faunística de populações de insetos associados a decomposição de carcaças de suínos expostas em diferentes altitudes e condições pluviométricas na reserva florestal da Serra do Japi, Jundia, SP.** Tese de doutorado, Parasitologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

TRIVIA, A. L. **Análise do efeito de quimioterápicos em *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae).** Dissertação de Mestrado, Biotecnologia e Biociências, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

THYSSEN, P. J. **Decomposição e sucessão entomológica em carcaças de suínos (*Sus scrofa* L.) de tamanhos diferentes: estudos em ambiente de mata natural na região de Campinas-SP.** Dissertação de mestrado, Parasitologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

THYSSEN, P. J.; GRELLA, M. D. **Efeito da escopolamina sobre o desenvolvimento de *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) e sua importância para a estimativa do intervalo pós-morte.** Revista Brasileira Criminalística, v.1, p. 39 – 42, 2011.

VON ZUBEN, C. J. **Competição larval em *Chrysomya megacephala* (Diptera, Calliphoridae): Estimativa de perdas em biomassa e na fecundidade e cálculo de**

**conversão de alimento em biomassa.** Revista Brasileira de Entomologia, v. 37, p. 793 – 802, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Figures and facts about suicide.** Genebra: OMS, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Preventing Suicide: A Global Imperative.** Genebra: OMS, 2014.